



**Emmanuelle PLAISIER**

## Nouvelles pistes physiopathologiques dans les néphropathies tubulo-interstitielles familiales par mutation du gène UMOD

(1) *Jonhson BG, et al. « Uromodulin p.Cys147Trp mutation drives kidney disease by activating ER stress and apoptosis ». J Clin Invest 2017 ; 127 : 3954-3969.*

L'uromoduline (UMOD), aussi appelée protéine de Tamm-Horsfall, est une glycoprotéine synthétisée en grande quantité par les cellules tubulaires de la branche large ascendante de l'anse de Henle. Des mutations du gène UMOD sont responsables de néphropathies tubulo-interstitielles chroniques autosomiques dominantes avec hyperuricémie, évoluant vers l'insuffisance rénale terminale habituellement après l'âge de 40 ans. L'uromoduline est exprimée au pôle apical des cellules et massivement excrétée dans les urines, où elle exerce une activité antibactérienne et inhibitrice de la cristallisation du calcium. Les mutations UMOD conduisent à une accumulation massive de la protéine, dont la conformation est anormale, dans certains compartiments intracellulaires, en particulier dans le réticulum endoplasmique (RE).

L'équipe de J Duffield, a généré un modèle murin mutant *UmodC147W/+* grâce à la technique CRISPR-Cas9, qui reproduit les maladies rénales humaines. L'étude des événements moléculaires responsables du processus lésionnel cible trois voies, constituant de pistes thérapeutiques. La rétention massive dans le RE de UMOD mutée induit une réponse appelée « unfolded protein response » (UPR) impliquant PERK/ATF4, puis la molécule TRIB3 et la voie du TNF alpha. Ces molécules induisent des effets cellulaires délétères, en particulier une apoptose, l'induction précoce de médiateurs pro-inflammatoires et de voies pro-fibrosantes. Le blocage du TNF alpha réduit ces effets cellulaires et améliore le phénotype rénal de la souris *UmodC147W/+*. In vitro, l'invalidation de TRIB3 prévient l'apoptose induite par l'UPR dans les cellules mutées. Une autre observation importante dans ce modèle est l'absence paradoxale d'activation de l'autophagie, voie essentielle de régulation de l'homéostasie cellulaire, notamment pour la dégradation des agrégats protéiques. Ce déficit d'autophagie semble en partie directement lié à la protéine UMOD mutée. La stimulation de l'autophagie, en particulier par un inhibiteur de mTor, permet une réduction partielle des agrégats intracellulaires de protéine mutée.

Au-delà de la compréhension des néphropathies liées à UMOD, ces données constituent des pistes dans les pathologies résultant d'une anomalie conformationnelle de protéines. Une limite potentielle des pistes thérapeutiques évoquées tient à la nécessité de cibler sélectivement les cellules malades, en raison du rôle physiologique majeur des voies moléculaires impliquées.

## Apports de l'étude des spécificités épitopiques anti-PLA2R1 dans la décision thérapeutique et le suivi des glomérulopathies extramembraneuses idiopathiques (GEM).

(1) Seitz-Polski B, et al. Epitope Spreading of Autoantibody Response to PLA2R Associates with Poor Prognosis in Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2016 27 : 1517-33.

(2) Dahan K, et al Rituximab for Severe Membranous Nephropathy: A 6-Month Trial with Extended Follow-Up. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28:348-358.

(3) Seitz-Polski B, et al. Phospholipase A2 Receptor 1 epitope spreading at baseline predicts reduced likelihood of remission of membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2017 Nov 7. pii: ASN.2017070734. doi: 10.1681/ASN.2017070734.

L'identification d'une immunisation contre le récepteur M de la phospholipase A2 (PLA2R1) au cours des GEM idiopathiques a représenté une avancée importante. Les anticorps anti-PLA2R1 circulants constituent un biomarqueur diagnostique de cette pathologie avec une sensibilité de 70% et une spécificité proche de 100%. Marqueurs de l'activité immunologique de la maladie, l'évolution de leur titre est corrélée à l'évolution clinique, leur négativation prédisant notamment de plusieurs semaines la rémission clinique. L'étude de la spécificité des Ac anti-PLA2R1 circulants a identifiée trois épitopes, appelés CysR, CTLD1 et CTLD7, localisés dans trois domaines distincts extracellulaire de la protéine. CysR est un épitope immunodominant reconnu par tous les sérums de patients, alors que la détection d'anticorps ciblant CTLD1 et CTLD7 est inconstante, et témoigne d'un phénomène de « spreading » intramoléculaire au cours de la réponse anti-PLA2R1.

L'analyse rétrospective d'une cohorte de 50 patients GEM a montré qu'une immunisation anti-PLA2R1 restreinte à l'épitope CysR était associée à un âge plus jeune, une protéinurie moins importante, un taux élevé de rémission spontanée et un risque moindre de progression de l'insuffisance rénale. En revanche, une immunisation combinée CysRC1, CysRC7 ou CysRC1C7 est associée à un mauvais pronostic rénal. En outre, l'évolution de la spécificité épitopique est importante, puisque le retour à une monospécificité CysR est associé une évolution rénale favorable (1).

Une étude ancillaire à l'essai prospectif randomisé GEMRITUX ayant comparé l'efficacité du Rituximab associé à un traitement anti-protéinurique, au traitement antiprotéinurique seul (2), confirme l'intérêt de l'étude des spécificités épitopiques anti-PLA2R1 (3). Avant traitement, l'existence d'un spreading épitopique est corrélé à un titre plus élevé d'Ac anti-PLA2R1 (spreading constant au-delà de 365.5 RU/ml) et est associé à un taux de rémissions plus faible à 6 mois, quel que soit le traitement reçu. Une perte de la triple réactivité CysRC1C7 au profit, soit de la monoréactivité CysR, soit de la disparition complète des Ac anti-PLA2R1, est significativement plus fréquente à 3 et 6 mois dans le groupe recevant le Rituximab, et cette évolution immunologique est associée à une meilleure réponse clinique. A contrario, la persistance d'un spreading est associée à un plus faible taux de rémission. L'existence d'un spreading au diagnostic constitue donc un facteur pronostic indépendant, y compris en présence d'un faible taux Ac anti-PLA2R1, et pourrait inciter à traiter précocement les patients ayant ce profil immunologique, alors qu'une période d'observation sans immunosuppresseur pourrait être admise chez les patients ayant une monoréactivité CysR, plus favorable à la survenue d'une rémission spontanée.

## Formes familiales de syndromes néphrotiques idiopathiques cortico-sensibles (SNCS) : caractéristiques cliniques, données génétiques

(1) Dorval G et al. *Clinical and genetic heterogeneity in familial steroid-sensitive nephrotic syndrome. Pediatric Nephrol*, 2017;

(2) Gee HY et al, *Mutations in EMP2 cause childhood-onset Nephrotic syndrome. Am J Hum Genet*, 2014; 94:884-890.

(3) Gbadegesin RA et al. *HLA-DQ1 and PLCG2 are candidate risk loci for childhood onset steroid sensitive nephrotic syndrome J Am Soc Nephrol* 2015; 26:1701-1710.

Dorval et al ont analysé les caractéristiques cliniques de 59 familles de SNCS ( $\geq 2$  sujets atteints de SN, et  $\geq 1$  sujet SNCS, 131 sujets au total), qui comptent pour moins de 10% des formes familiales de SN collectées par le groupe de C. Antignac à Necker (1). La transmission était compatible avec un mode récessif pour 33 familles, et un mode dominant pour 26. Les caractéristiques cliniques étaient globalement similaires à celles observés dans les formes sporadiques de SNCS, sans impact du mode de transmission, avec un début infantile dans 90% des cas et une prédominance de lésions glomérulaires minimales histologiques (80 à 84%)%. Une variabilité intrafamiliale était notable, concernant la survenue de rechutes et l'évolution de la cortico-sensibilité. Une cortico-résistance secondaire survenait chez 10 % des patients, 6 d'entre eux développant une insuffisance rénale terminale et recevant un greffon rénal, avec une récurrence post-transplantation du SN survenant chez 2 patients.

Une fréquence accrue des 2 variants de susceptibilité HLA-DQA1, précédemment identifiés dans les SNCS sporadiques (3), était retrouvé dans cette cohorte avec un odds ratio dépassant 5 par rapport à une population contrôle européenne, mais similaires aux SNCS sporadiques. Par ailleurs, aucune des 33 familles à transmission récessive ne présentait d'anomalie du gène EMP2, précédemment identifiées dans 3 familles de SNCS récessifs. Le séquençage de l'exome complet (« whole exome sequencing ») dans 13 de ces familles n'a pas permis de caractériser de variant rare au sein d'un gène d'intérêt et/ou partagé par plusieurs familles. Enfin, aucune anomalie des 34 gènes impliqués dans les formes de SN cortico-résistants n'a été caractérisée chez 5 patients développant une insuffisance rénale terminale.

L'étude des formes familiales de SNCS offre une opportunité d'approcher la physiopathologie complexe de cette maladie, soit en démasquant certains mécanismes génétiques et/ou en pointant des facteurs environnementaux. Le recrutement de nouvelles familles informatives pourraient notamment permettre des études génétiques plus puissantes.

# Apport du séquençage de l'exome entier dans les syndromes néphrotiques cortico-résistants

(1) Warejko JK et al. *Whole exome Sequencing of patients with steroid-resistant nephrotic syndrome. Clin J Am Soc Nephrol*, 2017; doi: 10.2215/CJN.04120417

L'équipe de F. Hildebrandt a étudié grâce au séquençage de l'exome entier les caractéristiques génétiques d'une large cohorte de 335 patients (300 familles dont 146 avec consanguinité) présentant un syndrome néphrotique cortico-résistant (SNCR). Les données générées sont les suivantes : (1) L'analyse ciblée de 33 gènes impliqués dans les SNCR identifie chez 74 (25%) familles, une mutation causale dans 20 de ces gènes, le taux de mutation atteignant 38% dans les familles avec consanguinité. De manière intéressante, 12% de ces mutations avaient échappées au séquençage haut débit (NGS) sur un panel de gènes ciblés ; (2) Dans 11 (3,7%) familles, une mutation causale est détectée dans d'autres gènes connus (COL4A5, COL4A3, CLCN5, GLA, AGXT, CTNS, FN1, WDR19), constituant des phénocopies; (3) De nouveaux gènes candidats avec variant potentiellement pathogènes sont caractérisés dans 42% des familles consanguines, et 13% des familles sans consanguinité avec plus d'un individu atteint. Seule une liste non exhaustive de ces nouveaux gènes est produite par les auteurs.

Le recours au séquençage d'exome s'avère très intéressant, avec un taux de détection de variants pathogènes incluant gènes connus, phénocopies et nouveaux gènes candidats atteignant 84% dans les familles avec consanguinité. Des études complémentaires restent néanmoins indispensables pour positionner les nouveaux gènes et leurs variants identifiés dans le SNCR.



## Multiplex epithelium dysfunction due to CLDN10 mutation : the HELIX syndrome

Un travail multidisciplinaire impliquant des services hospitaliers et des unités de recherche INSERM et CNRS\* a permis la publication d'un article dans le Genetics in Medicine le 3 août dernier portant sur un nouveau syndrome, HELIX, impliquant le rein : "Multiplex epithelium dysfunction due to CLDN10 mutation : the HELIX syndrome".

Plusieurs études menées au cours des dernières années ont permis de montrer l'importance de la voie paracellulaire dans les phénomènes de transports ioniques au travers des épithéliums.

Les jonctions serrées sont les piliers de ces transports paracellulaires et les propriétés de chaque jonction serrée sont dues à l'expression de protéines spécifiques, les claudines. Plus de 30 claudines existent chez les mammifères ; néanmoins, un seul syndrome rénal dû à des anomalies de claudines était décrit : l'hypomagnésémie familiale avec hypercalciurie et néphrocalcinose (FHHNC, MIM...), maladie de transmission autosomique récessive lié à des anomalies génétiques de claudine-16 ou claudine-19.

Un autre syndrome vient d'être identifié (S. Hadj-Rabia et al, Genet Med. 2017 Aug 3.), lié à une anomalie d'une autre claudine exprimée dans le rein et d'autres organes, la claudine-10b : ce syndrome associe des anomalies rénales (une perte rénale de NaCl responsable d'un hyperaldostérisme secondaire, une hypokaliémie et une hypermagnésémie) et des anomalies extrarénales : une diminution marquée des sécrétions salivaires, sudorales et lacrymales. Il a été baptisé HELIX, pour Hypohidrosis, Electrolyte abnormalities, Lacrimal deficiency, Ichthyosis, Xerostomia.

De manière remarquable, deux autres articles, décrivant des anomalies similaires dues à des mutations de claudine-10b, ont été publiés de manière presque synchrone, l'un par un groupe germano-néerlandais (Bongers E et al, J Am Soc Nephrol. 2017 Jul 3), l'autre par un groupe suédo-pakistanaï (Klar J et al, PLoS Genet. 2017 Jul 7;13(7):e1006897).

### [Lire l'article](#)

*\* Service de dermatologie de l'hôpital Necker (CRMR MAGEC), service de physiologie de l'HEGP (CRMR MARHEA), service de génétique de l'HEGP (CRMR MARHEA), service de néphrologie adulte de l'hôpital Necker (CRMR MARHEA), service d'odontologie de l'hôpital Bretonneau (CRMR maladies du calcium et du phosphate), services d'anatomopathologie des hôpitaux Necker et HEGP, Institut de Physiologie de Zurich, service de génétique de l'hôpital de Doha au Qatar, unités INSERM 1138, 1163, 1155*